MicroBioLogics

Micro-organismes LYFO DISK®
Micro-organismes KWIK-STIK™
Micro-organismes KWIK-STIK™ Plus

UTILISATION

Les micro-organismes LYFO DISK®, KWIK-STIK™ et KWIK-STIK™ Plus sont des préparations lyophilisées issues de culture de référence contenant une souche unique d'un micro-organisme.

Ces préparations de micro-organismes sont traçables par l'American Type Culture Collection (ATCC®) ou par d'autres souchothèques agréées.

RÉSUMÉ ET HISTORIQUE

Il est essentiel de disposer d'une source fiable de cultures issues de cultures de référence, destinée à être utilisée dans des programmes d'assurance qualité en microbiologie. On utilise des micro-organismes ayant des caractéristiques connues et prévisibles dans les contrôles qualité, dans l'enseignement et dans les programmes de contrôle interlaboratoires.

La lyophilisation est une méthode bien connue et recommandée pour la conservation à long terme de micro-organismes.

Les micro-organismes LYFO DISK®, KWIK-STIK™ et KWIK-STIK™ Plus sont des préparations lyophilisées. L'utilisation de ce produit lyophilisé offre des résultats équivalents à ceux des méthodes classiques de préparation, de stockage et de conservation de collections de culture de référence.

PRINCIPE

Les micro-organismes LYFO DISK®, KWIK-STIK™ et KWIK-STIK™ Plus incorporent une méthode de lyophilisation rapportée par Yamai *et al.* et qui utilise un milieu stabilisateur composé de gélatine, de lait écrémé, d'acide ascorbique, de dextrose et de charbon. La gélatine sert de support pour les micro-organismes. Le lait écrémé, l'acide ascorbique et le dextrose protègent le micro-organisme en préservant l'intégrité des parois cellulaires lors de la lyophilisation et du stockage. La présence de charbon permet de neutraliser toute substance toxique s'étant formée lors du processus de lyophilisation.

COMPOSITION

Chaque préparation lyophilisée est composée de :

- Population de micro-organismes ;
- Gélatine ;
- Lait écrémé ;
- Acide ascorbique ;
- Dextrose ;
- Charbon.

DESCRIPTION DU PRODUIT

A. Micro-organismes LYFO DISK®

Les micro-organismes LYFO DISK® sont présentés dans un flacon refermable contenant dix (10) pastilles d'une souche unique de micro-organismes et un déshydratant afin d'éviter l'apparition d'humidité indésirable.

Les micro-organismes LYFO DISK® ont une caractéristique supplémentaire :

- Chaque lyophilisat de micro-organismes est au plus le quatrième (4^e) repiquage depuis la culture de référence.

B. Micro-organismes KWIK-STIK™

Chaque unité **KWIK-STIK™** contient une pastille lyophilisée d'une souche unique de micro-organismes, un réservoir de fluide hydratant et un écouvillon d'ensemencement. Chaque élément est emballé hermétiquement dans un sachet contenant un déshydratant afin d'éviter l'apparition d'humidité indésirable.

Les micro-organismes KWIK-STIK™ ont une caractéristique supplémentaire :

- Chaque lyophilisat de micro-organismes est au plus le quatrième (4^e) repiquage depuis la culture de référence.

C. Micro-organismes KWIK-STIK™ Plus

Le conditionnement des micro-organismes KWIK-STIK™ Plus est identique à celui des micro-organismes KWIK-STIK™.

Les micro-organismes KWIK-STIK™ Plus ont deux caractéristiques supplémentaires :

- Chaque lyophilisat de micro-organismes est au plus le deuxième (2^e) repiquage depuis la culture de référence.
- Un certificat d'analyse est fourni, donnant des informations quant à l'identité et à la traçabilité de la préparation de micro-organismes par rapport à la culture de référence ; il indique aussi le nombre de repiquages depuis la culture de référence.

PRÉCAUTIONS ET RESTRICTIONS

- Ces produits sont destinés à usage in vitro uniquement.
- On considère que ce matériel, ainsi que l'ensemencement postérieur de ces micro-organismes sur un milieu approprié, constituent un matériel à risque biologique.
- Ces produits contiennent des micro-organismes viables pouvant, dans certains cas, provoquer des maladies. On devra employer des techniques appropriées afin d'éviter d'être exposé et d'entrer en contact avec les cultures de micro-organismes.
- Le laboratoire de microbiologie doit être équipé et doit disposer des installations permettant de recevoir, de traiter, de conserver, de stocker et de jeter du matériel à risque biologique.
- Le personnel du laboratoire de microbiologie utilisant ces produits doit être formé, expérimenté et apte à traiter, à conserver, à stocker et à jeter du matériel à risque biologique.
- L'administration et les lois réglementent le rejet de tout matériel à risque biologique. Chaque laboratoire devra connaître et respecter les dispositions concernant les matériels à risque biologique.

STOCKAGE ET PÉREMPTION

Stockez les **micro-organismes LYFO DISK®, KWIK-STIK™ et KWIK-STIK™ Plus** entre 2°C et 8°C dans leur flacon ou leur sachet d'origine, fermé et contenant le déshydratant.

Si elle est ainsi conservée, la préparation lyophilisée de micro-organismes conservera, jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit, ses caractéristiques et ses performances dans les limites établies.

On ne doit pas utiliser les **micro-organismes LYFO DISK®, KWIK-STIK™ et KWIK-STIK™ Plus :**

- s'ils n'ont pas été stockés correctement ;
- si on suppose qu'ils ont été exposés à la chaleur ou à l'humidité ; ou,
- si la date de péremption est dépassée.

MATÉRIELS NÉCESSAIRES NON FOURNIS

- Des tubes stériles, 0,5 ml de bouillon trypticase-soja stérile, de bouillon cœur-cervelle stérile ou d'eau stérile, sérum physiologique ou eau déminéralisée, afin de réhydrater le lyophilisat de **micro-organismes LYFO DISK®.** Des écouvillons stériles ou des boucles d'inoculation sont nécessaires pour transférer la préparation reconstituée sur une plaque gélosée.
- Un milieu non-sélectif de gélose nutritive ou enrichie afin d'optimiser l'ensemencement et la reconstitution des **micro-organismes LYFO DISK®, KWIK-STIK™ et KWIK-STIK™ Plus.**
- Des conditions et des délais spécifiques d'incubation sont nécessaires pour optimiser l'ensemencement et la reconstitution des **micro-organismes LYFO DISK®, KWIK-STIK™ et KWIK-STIK™ Plus.**

Le bulletin d'information technique (TIB.081) ***« Recommandations pour la croissance»*** indique les milieux recommandés et les conditions requises pour l'incubation. Ce bulletin est disponible sur notre site web à www.microbiologics.com.

GARANTIE DU PRODUIT

Ces produits sont garantis conformes aux spécifications et aux performances indiquées sur les documents écrits et sur les illustrations des notices, des modes d'emploi et des brochures annexes du produit.

La garantie, énoncée ou implicite, n'est pas engagée lorsque :

- les procédures utilisées dans le laboratoire sont contraires à celles du texte et des illustrations des instructions et des modes d'emploi, ou
- lorsque les produits sont utilisés pour des applications différentes de l'utilisation prévue indiquée sur les notices, les modes d'emploi et les brochures annexes du produit.

MODE D'EMPLOI

A. Marche à suivre pour les micro-organismes LYFO DISK®

1. Retirer le flacon de **LYFO DISK®** de la zone de stockage à 2-8°C et le laisser revenir à température ambiante, sans l'ouvrir, afin d'atteindre l'équilibre thermique.
2. Prendre de façon aseptique une (1) pastille de gélatine du flacon. Placer la pastille dans 0,5 ml de bouillon trypticase-soja stérile, de bouillon cœur-cervelle stérile ou bien d'eau stérile, sérum physiologique ou eau déminéralisée. Refermer **IMMÉDIATEMENT** le flacon contenant le déshydratant avec le bouchon en caoutchouc et la capsule à vis. Remettre les pastilles de micro-organismes restantes dans la zone de stockage à 2-8°C.
3. Émulsionner et écraser la pastille au moyen d'un écouvillon stérile jusqu'à ce que les particules de la pastille aient une taille uniforme et que la suspension ait une apparence homogène.
4. Imbiber à saturation **IMMÉDIATEMENT** l'écouvillon avec cette suspension et le transférer sur un milieu approprié, non-sélectif de gélose nutritive ou enrichie. Faire légèrement pression sur l'écouvillon, en le faisant tourner, et inoculer une zone circulaire (soit 25 mm de diamètre) de milieu gélosé. Au moyen du même écouvillon ou d'une anse stérile, repiquer en zigzag à plusieurs reprises (de 10 à 20 fois environ) la zone inoculée et repiquer en zigzag ensuite le reste de la surface gélosée pour l'isoler.
5. Incuber **IMMÉDIATEMENT** le milieu inoculé suivant la température et les conditions appropriées pour le micro-organisme.
6. Choisir, après incubation, des colonies représentatives bien isolées pour les transferts indiqués.

B. Marche à suivre pour les micro-organismes KWIK-STIK™ et KWIK-STIK Plus™.

1. Retirer l'unité **KWIK-STIK™** de la zone de stockage à 2-8ºC et laisser le sachet à température ambiante, sans l'ouvrir, afin d'atteindre l'équilibre thermique.
2. Ouvrir le sachet et retirer l'unité **KWIK-STIK™**.
3. Déchirer la partie à arracher de l'étiquette du **KWIK-STIK™**. Il est possible de coller l'étiquette identificatrice sur le dossier de contrôle qualité ou sur la première boîte de gélose pour identification.
4. Noter que la pastille se trouve au fond du dispositif et que le réservoir de liquide d'hydratation se situe dans la partie supérieure (bouchon) du dispositif.
   NE PAS démonter le dispositif lors de l'hydratation.
5. Casser l'ampoule en pinçant le milieu du capuchon du dispositif afin de libérer le fluide hydratant. Laissez le fluide hydratant s'écouler sur l'écouvillon **JUSQU'AU** fond du dispositif contenant la pastille de gélatine.
6. Donner de petits coups sur l'extrémité inférieure du dispositif, tout en le tenant verticalement et le capuchon vers le haut, afin de faciliter l'écoulement du liquide.
7. En pinçant la partie inférieure du dispositif, écraser et mélanger la pastille avec le liquide jusqu'à ce que les particules de la pastille aient une taille uniforme et que la suspension ait une apparence homogène.
8. Imbiber à saturation **IMMÉDIATEMENT** l'écouvillon avec cette suspension et le transférer sur un milieu approprié, non-sélectif de gélose nutritive ou enrichie. Faire légèrement pression sur l'écouvillon, en le faisant tourner, et inoculer une zone circulaire (soit 25 mm de diamètre) de milieu gélosé. Au moyen du même écouvillon ou d'une anse stérile, repiquer en zigzag à plusieurs reprises (de 10 à 20 fois environ) la zone inoculée et repiquer en zigzag ensuite le reste de la surface gélosée pour l'isoler.
9. Incuber **IMMÉDIATEMENT** le milieu inoculé suivant la température et les conditions appropriées pour le micro-organisme.
10. Choisir, après incubation, des colonies représentatives bien isolées pour les transferts indiqués.
11. Jeter tout matériel réhydraté restant conformément aux protocoles de laboratoire concernant la destruction de matériels à risque biologique.

GUIDE DE DÉPANNAGE

En cas de problème veuillez consulter ce guide et le TIB.081 « Recommandations pour la croissance ».

PROBLÈME	CAUSE POSSIBLE	RECOMMANDATIONS
PAS DE CROISSANCE	1) La pastille lyophilisée était-elle stockée correctement ?	1a) Conserver les micro-organismes lyophilisés entre 2 et 8°C dès la réception.
	2) La pastille lyophilisée a t'elle été reconstituée correctement ?	2a) Ne pas incuber la suspension reconstituée. Utiliser la pastille reconstituée dans les trente (30) minutes. 2b) Les espèces Vibrio & Shewanella doivent être reconstituées uniquement dans une solution BHI, TSB, saline (0,85%) ou Kwik-Stik.
	3) Le choix du **milieu** était-il bon ?	3a) Certains micro-organismes nécessitent un milieu spécifique. Exemple : Le Bordetella pertussis a besoin d'un milieu Bordet Gengou ou de charbon. 3b) L'anaérobie doit être commencé sur un milieu d'anaérobie ou un milieu gélosé pré-réduit. 3c) Il est recommandé de commencer des micro-organismes lyophilisés sur un milieu gélosé non-sélectif.
	4) Le micro-organisme a t'il été incubé à la bonne **température** ?	4a) Certains micro-organismes ne croissent pas à 35 degrés. Exemples : * Le Geobacillus stearothermophillus croît à 55 degrés. * Certaines levures croissent mieux entre 25 et 30 degrés. 4b) Vérifier la précision du thermomètre. 4c) Effectuer des analyses d'uniformité de l'incubateur pour garantir l'uniformité thermique.
	5) Le micro-organisme a t'il été incubé dans la bonne **atmosphère** ?	5a) Le Campylobacter nécessite des conditions microaérophiles. 5b) Utiliser un indicateur anaérobique avec des anaérobies.
	6) Le micro-organisme est-il resté dans l'incubateur la **durée** nécessaire ?	6a) Certains micro-organismes nécessitent plusieurs jours pour croître. Exemples : * Micromonas - 5 à 7 jours * Porphyromonas - 5 à 7 jours * Prevotella - 5 à 7 jours
CONTAMINATION	1) Le micro-organisme lyophilisé a t'il été cultivé dans un bouillon ?	1a) Les contaminants se multiplient rapidement dans un bouillon. Il est recommandé de commencer des micro-organismes sur un milieu gélosé.
RÉSULTATS DE TEST INATTENDUS	1) La sous-culture du micro-organisme a t'elle été réalisée correctement ?	1a) Ne jamais effectuer de test sur croissance de pastille. 1b) La répétition de sous-cultures peut entraîner une mutation. 1c) Utiliser toujours des croissances fraîches.
	2) L'inoculum était-il trop petit ?	2a) Les colonies de Bacteroides ureolyticus sont très petites. Réaliser la sous-culture de plusieurs plaques pour votre test.
	3) L'organisme de contrôle de qualité utilisé était-il le bon ?	3a) Utiliser le micro-organisme recommandé par le fabricant du test ou une personne compétente.

NETTOYAGE DU MATÉRIEL À RISQUE BIOLOGIQUE

En cas de fuite ou d'écoulement accidentel du dispositif ou de la croissance consécutive de micro-organismes sur le milieu gélosé, les informations suivantes décrivent schématiquement les matériels et les procédures qui faciliteront en toute sécurité le nettoyage du matériel à risque biologique.

1. **Fiche de données de sécurité du matériel (MSDS)**
   - Un dossier doit contenir tous les documents MSDS se rapportant au matériel à risque biologique.
   - Le dossier MSDS doit être à la disposition de tous les employés.
   - Tous les employés doivent connaître l'emplacement des dossiers MSDS.
2. **Coffret pour les fuites de matériel à risque biologique.**
   Ces coffrets existent dans le commerce; il est aussi possible de les concevoir en utilisant les éléments suivants :
   - Une bouteille d'un litre de solution aqueuse germicide ;
   - Une paire de gants jetable en latex et/ou sans latex ;
   - Une pince brucelles ;
   - Un sachet avec fermeture pour matériel à risque biologique ; et
   - Une pile ou un rouleau de papier.
3. **Marche à suivre**
   - Signaler l'incident à **TOUTES** les personnes travaillant dans la zone directement affectée.
   - **NE PAS** laisser la zone sans surveillance (à moins d'être la seule personne dans la zone affectée). Désigner un autre employé afin qu'il surveille la zone de l'incident et qu'il dévie le passage.
   - Après avoir informé tous les employés de la zone affectée, aller chercher le coffret précité et revenir **IMMÉDIATEMENT** dans la zone.
   - Mettre les gants jetables.
   - Ramasser au moyen de la pince brucelles tout le matériel que vous pourrez et le placer en faisant attention dans le sac de matériel à risque biologique.
   - Appliquer la solution germicide sur la zone affectée.
   - Il est nécessaire de laisser la zone humidifiée par la solution germicide pendant la période indiquée sur le flacon.
   - Essuyer la zone avec des serviettes en papier.
   - Placer toutes les serviettes en papier dans le sac de matériel à risque biologique.
   - Après le nettoyage, enlever les gants avec précaution et jetez-les dans le sac de matériel à risque biologique.
   - Fermer hermétiquement le sac de matériel à risque biologique.
   - Détruire ce sac conformément à la réglementation en vigueur.

SYMBOLES

Représentant autorisé dans l'Union européenne

Code Lot

Logo CE

Référence catalogue

Prudence, consulter les documents fournis
Attention, consulter le mode d'emploi

Instrument médical de diagnostique in vitro

Fabricant

Limite de température

Date de péremption

CONTRÔLE QUALITÉ

Ce produit a été développé, fabriqué et distribué :

- en conformité avec les autorisations de la FDA : Quality System Regulations (QSR), 21CFR Partie 820 ;
- en conformité avec les éléments de la norme ISO 9001:2000 ; et,
- en conformité avec la réglementation relative au marquage CE.

Les dispositions du contrôle qualité incluent sans s'y limiter :

- les caractéristiques concernant la pureté et la croissance ;
- les caractéristiques morphologiques ;
- l'activité biochimique ;
- l'identité et la traçabilité de la préparation de micro-organismes par rapport à la culture de référence ; et
- le nombre de repiquages de la préparation de micro-organismes réalisés depuis la culture de référence.

La décision de réaliser un contrôle qualité supplémentaire appartient à chaque laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

La référence suivante mentionne les bases de la méthode de lyophilisation utilisée pour ces préparations de micro-organismes.

1. S. Yamai, T. Nikkawa, Y. Shimoda, and Y. Miyamoto. 1981. J. Clin. Microbiol. 14:61-66.

Le choix des cultures de référence n'est qu'un des éléments du schéma général des procédures et des techniques de contrôle qualité. Il est essentiel de se référer aux directives pour les applications de chaque laboratoire. Voici quelques exemples :

1. AOAC Compendium of Microbiological Methods.
2. Clinical Microbiology Procedure Handbook. 2ème Éd. 2004. ASM. Washington, D.C.
3. FDA Bacteriological Analytical Manual.
4. Manual of Clinical Microbiology, ASM, Washington, D.C.
5. Manual of Quality Control Procedures for Microbiology Laboratories, 3e Ed., 1981. CDC, Atlanta, GA..
6. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. CLSI.
7. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.
8. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. CLSI.
9. Quality Assurance for Commercially Prepared Microbiological Culture Media. CLSI.
10. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. CLSI.
11. Standard Methods for the Examination of Dairy Products.
12. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.
13. US Pharmacopoeia 28 and National Formulary 23.

SITE WEB

Visitez notre site web pour vous informer des informations techniques actuelles et pour connaître la disponibilité des produits.

www.microbiologics.com

MicroBioLogics, Inc
217 Osseo Avenue North
St. Cloud, MN 56303 USA
Tél. 320 253 1640
Fax. 320 253 6250
Courriel : info@mbl2000.com

EC REP MediMark® Europe
11, rue Emile Zola B.P. 2332
38033 Grenoble Cedex 2, France
Tél. 33 (0)4 76 86 43 22
Fax. 33 (0)4 76 17 19 82
Courriel : info@medimark-europe.com

ATCC Licensed Derivative™ Le logo dérivé ATCC, la dénomination ATCC et les marques de référence ATCC sont des marques déposées d'ATCC. MicroBioLogics, Inc. est autorisé à utiliser ces marques déposées et à vendre des produits dérivés des cultures d'ATCC®.

Fisher Scientific
Part of Thermo Fisher Scientific

Belgique / België	tél 056 260 260	fax 056 260 270	be.fisher@thermofisher.com	www.be.fishersci.com
España	tfno 91 380 67 10	fax 91 380 85 02	es.fisher@thermofisher.com	www.es.fishersci.com
France	tél 03 88 67 53 20	fax 03 88 67 11 68	fr.commande@thermofisher.com	www.fr.fishersci.com
Italia	tel 02 953 28 258	fax 02 953 27 374	it.fisher@thermofisher.com	www.it.fishersci.com
Netherlands	tel 020 487 70 00	fax 020 487 70 70	nl.info@thermofisher.com	www.nl.fishersci.com
Portugal	tel 21 425 33 50	fax 21 425 33 51	pt.fisher@thermofisher.com	www.pt.fishersci.com
Suisse / Switzerland	tél 056 618 41 11	fax 056 618 41 41	info.ch@thermofisher.com	www.ch.fishersci.com